

①⑨ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ Patentschrift
⑪ DE 3806955 C2

⑲ Aktenzeichen: P 38 06 955.5-52
⑳ Anmeldetag: 3. 3. 88
㉑ Offenlegungstag: 15. 9. 88
㉒ Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: 7. 6. 90

⑤① Int. Cl. 5:
G01 N 27/12
G 01 N 27/40
H 01 L 29/66
C 12 Q 1/54
G 01 N 27/414

DE 3806955 C2

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

③① Unionspriorität: ③② ③③ ③①
03.03.87 JP P 46650/87 10.09.87 JP P 225342/87

⑦③ Patentinhaber:
Research Association of Bio-Technology for
Chemical, Tokio/Tokyo, JP

⑦④ Vertreter:
Popp, E., Dipl.-Ing. Dipl.-Wirtsch.-Ing. Dr. rer. pol.;
Sajda, W., Dipl.-Phys.; Reinländer, C., Dipl.-Ing.
Dr.-Ing.; Bohnenberger, J., Dipl.-Ing. Dr. phil. nat.,
8000 München; Bolte, E., Dipl.-Ing.; Möller, F.,
Dipl.-Ing., Pat.-Anwälte, 2800 Bremen

⑦⑦ Erfinder:

Hanazato, Yoshio; Nakako, Mamiko; Shiono, Satoru;
Inatomi, Kenichi, Amagasaki, Hyogo, JP

⑤⑤ Für die Beurteilung der Patentfähigkeit
in Betracht gezogene Druckschriften:

Laboratory Practice, Feb. 1985, S. 11-15;
J. Phys.E: Sci. Instr., Bd. 18 (1985) S. 736-750;
Sensors and Actuators, Bd. 7(1985), S. 233;

⑤④ Glucoseempfindlicher FET-Sensor und Verfahren zu seiner Herstellung

DE 3806955 C2

FIG. 1

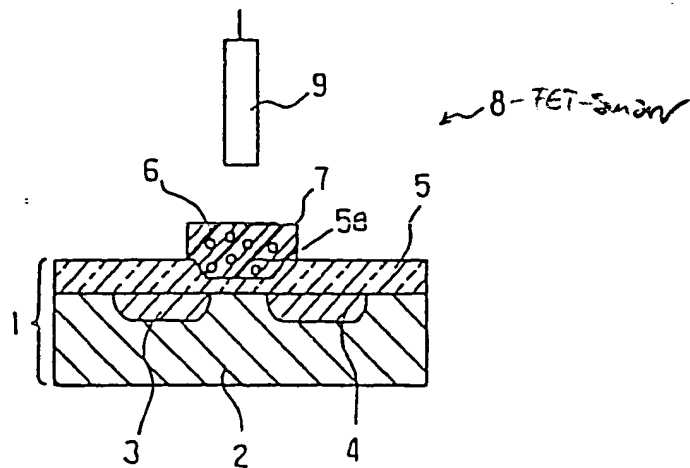
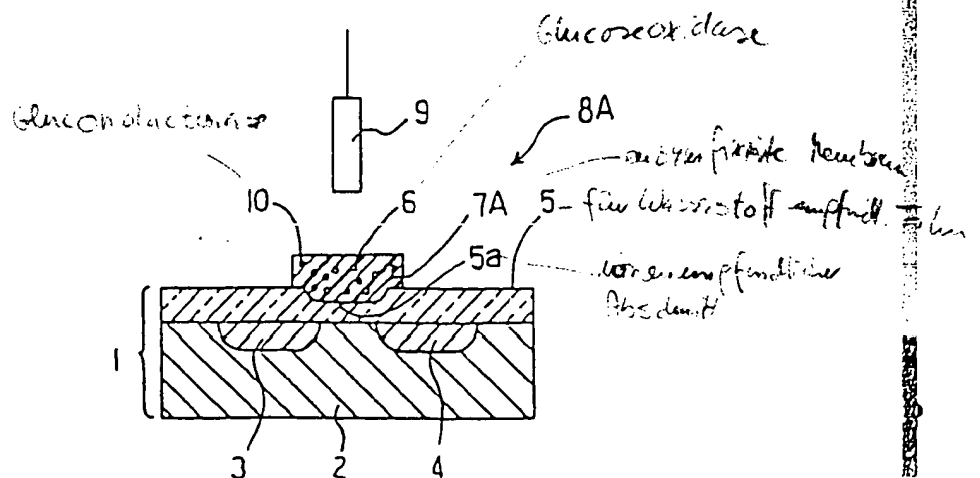


FIG. 2



Beschreibung

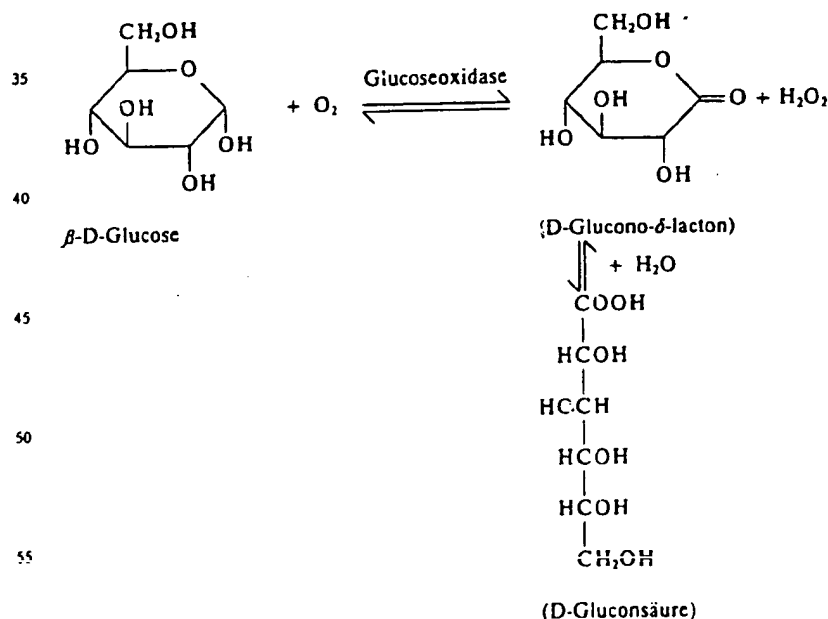
Die Erfindung betrifft einen glucoseempfindlichen FET-Sensor mit hoher Empfindlichkeit und schnellem Ansprechvermögen sowie ein Herstellungsverfahren dafür.

Es ist bekannt, daß für die klinische Diagnose die Messung der Konzentration verschiedener organischer Substanzen in Körperflüssigkeiten wie Blut oder Urin sehr wichtig ist. Daher wurden bisher die Anstrengungen darauf gerichtet, verschiedene quantitative Meßverfahren und Verbesserungen derselben zu entwickeln. Insbesondere auf dem Gebiet der klinischen Diagnose besteht ein Bedarf für die Entwicklung eines quantitativen Meßverfahrens, bei dem ein kleiner Sensor mit schnellem Ansprechvermögen einsetzbar ist, da Spurenmen-

gen von Proben zu handhaben oder sehr schnelle Messungen auszuführen sind. Um diesen Bedarf zu decken, wurde ein Enzym-FET-Sensor entwickelt, der aus einer Kombination einer enzymfixierten Membran und eines ionensensitiven Feldeffekttransistors (ISFET) besteht, wobei letzterer ein Ionensensor ist, der mit bekannten Halbleiter-Herstellungsverfahren feinstbearbeitet werden kann.

Fig. 1 ist ein Querschnitt durch einen bekannten glucoseempfindlichen FET-Sensor. Ein ISFET-Element 1 umfaßt dabei ein Substrat 2, eine Source-Elektrode 3 und eine Drain-Elektrode 4, die beide im Substrat 2 ausgebildet sind, sowie einen auf der Oberfläche des Substrats 2 derart ausgebildeten wasserstoffionenempfindlichen Film 5, daß dieser die Source-Elektrode 3 und die Drain-Elektrode 4 überdeckt. Der wasserstoffionenempfindliche Film 5 ist ein Siliciumnitridfilm, der außerdem als elektrische Isolierschicht dient. Ein ionenempfindlicher Abschnitt 5a ist an demjenigen Teil der Oberfläche des wasserstoffionenempfindlichen Films 5 gebildet, der zwischen der Source-Elektrode 3 und der Drain-Elektrode 4 definiert ist. Eine enzymfixierte Membran 7, die Glucoseoxidase 6 enthält, ist auf dem empfindlichen Abschnitt 5a gebildet. Die enzymfixierte Membran 7 und das ISFET-Element 1 bilden gemeinsam einen glucoseempfindlichen FET-Sensor 8. Ferner ist eine Bezugselektrode 9 nahe der enzymfixierten Membran 7 angeordnet, so daß zwischen einem Halbleiterabschnitt des Sensors 8 und einer wäßrigen Lösung durch die wäßrige Lösung eine Gate-Spannung anlegbar ist.

Der bekannte glucoseempfindliche FET-Sensor 8 ist in der vorstehend beschriebenen Weise aufgebaut, und das ISFET-Element 1 ist für Wasserstoffionen in der wäßrigen Lösung empfindlich und zeigt ein Ansprechvermögen von ca. 50 mV/pH in einem pH-Bereich von 1–10. Wie z. B. in "Sensors and Actuators", (1985), Bd. 7, S. 233, angegeben ist, ist Glucoseoxidase ein Enzym, das selektiv β -D-Glucose oxidiert und bewirkt, daß β -D-Glucose zu D-Glucono- δ -lacton unter den Bedingungen der Koexistenz mit Sauerstoff zersetzt wird, wie dies durch die nachstehende Formel dargestellt ist. Das so erzeugte D-Glucono- δ -lacton wird in der wäßrigen Lösung durch eine natürliche hydrolytische Reaktion zu Gluconsäure.



Wenn β -D-Glucose in einer zu messenden wäßrigen Lösung vorliegt, findet die in der obigen Formel gezeigte Enzymreaktion in der enzymfixierten Membran 7 statt, die die Glucoseoxidase enthält, und somit wird Gluconsäure erzeugt. Daher wird der pH-Wert in der enzymfixierten Membran 7 klein. Das unter der enzymfixierten Membran 7 befindliche ISFET-Element 1 erfährt diese pH-Änderung und spricht dadurch auf die Glucosekonzentration an.

Da der vorstehend beschriebene glucoseempfindliche FET-Sensor 8 als Enzym Glucoseoxidase einsetzt, ist die Hydrolyse des D-Glucono- δ -lactons zu D-Gluconsäure ein geschwindigkeitsbestimmender Schritt in der durch die obige Formel dargestellten Reaktion. Daher werden die Empfindlichkeit und die Ansprechgeschwindigkeit des glucoseempfindlichen FET-Sensors 8 durch die geringe Geschwindigkeit der hydrolytischen Reak-

tion gehemmt. Dies führt zu dem Problem, daß eine weitere Steigerung der Empfindlichkeit und der Ansprechgeschwindigkeit des glucoseempfindlichen FET-Sensors 8 nicht möglich ist.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist daher die Bereitstellung eines kostengünstigen glucoseempfindlichen FET-Sensors, der mit hoher Empfindlichkeit und hoher Geschwindigkeit anspricht, sowie eines Herstellungsverfahrens dafür.

Der glucoseempfindliche FET-Sensor nach der Erfindung, mit einem Substrat, einer im Substrat gebildeten Source-Elektrode, einer im Substrat gebildeten Drain-Elektrode und einem auf dem Substrat die Source- und die Drain-Elektrode überdeckend gebildeten wasserstoffionenempfindlichen Film ist gekennzeichnet durch eine auf dem wasserstoffionenempfindlichen Film gebildete enzymfixierte Membran, die Glucoseoxidase und Gluconolactonase enthält.

Gemäß der Erfindung wird durch die in der enzymfixierten Membran enthaltene Gluconolactonase die hydrolytische Umsetzung von D-Glucono- δ -lacton durch die Enzymreaktion beschleunigt, wobei die Hydrolyse ein geschwindigkeitsbestimmender Schritt der vorher erwähnten Formel ist. Daher wird in der enzymfixierten Membran D-Gluconsäure sehr schnell aus β -D-Glucose erzeugt. Da die in der enzymfixierten Membran sich ansammelnde Gluconsäuremenge zunimmt, wird ferner die Empfindlichkeit des glucoseempfindlichen FET-Sensors verbessert. Da außerdem die Säurebildungsgeschwindigkeit zunimmt, wird das Ansprechverhalten des Sensors beschleunigt.

Da ferner nach der vorliegenden Erfindung ein wasserlösliches lichtempfindliches Harz zur Bildung einer sehr dünnen enzymfixierten Membran einsetzbar ist, kann ein Sensor mit sehr hoher Empfindlichkeit und Hochgeschwindigkeits-Ansprechverhalten hergestellt werden.

An Hand der Zeichnung wird die Erfindung beispielsweise näher erläutert. Es zeigt

Fig. 1 einen Querschnitt durch einen bekannten glucoseempfindlichen FET-Sensor,

Fig. 2 einen Querschnitt durch den glucoseempfindlichen FET-Sensor nach der Erfindung,

Fig. 3 eine Grafik, die das Ansprechverhalten entsprechend der Aktivität von Gluconolactonase zu Glucoseoxidase zeigt,

Fig. 4 eine Eichkurve des glucoseempfindlichen FET-Sensors;

Fig. 5 Kennlinien, die die Hydrolyse von D-Glucono- δ -lacton unter Einsatz von Gluconolactonase enthaltender Glucoseoxidase zeigen, und

Fig. 6 eine Grafik, die zum Vergleich die Ansprech Kennlinien der glucoseempfindlichen FET-Sensoren nach der Erfindung bzw. nach dem Stand der Technik zeigt.

Der Querschnitt nach Fig. 2 zeigt eine bevorzugte Ausführungsform des FET-Sensors. Dabei sind die Teile 1—6 und 9 mit denjenigen des bekannten glucoseempfindlichen FET-Sensors 8 von Fig. 1 identisch und wirken daher in der beschriebenen Weise. Eine enzymfixierte Membran 7A, die Glucoseoxidase 6 und Gluconolactonase 10 enthält, ist auf dem ionenempfindlichen Abschnitt 5a eines für Wasserstoffionen empfindlichen Films 5 eines ISFET-Elements 1 gebildet. Die enzymfixierte Membran 7A und das ISFET-Element 1 bilden gemeinsam einen glucoseempfindlichen FET-Sensor 8A.

Der so aufgebaute glucoseempfindliche FET-Sensor 8A wurde wie folgt hergestellt. Eine wäßrige Lösung eines wasserlöslichen lichtempfindlichen Harzes wurde hergestellt durch Auflösen eines 2,5-Bis(4'-azid-2'-sulfo-benzal)pyclopentanon-Natriumsalzes (hergestellt von Tokyo Ohkagogyo Co., Ltd.) in z. B. einer wäßrigen Lösung, die ein 20 Gew.-% wasserlösliches Polyvinylpyrrolidonharz mit einem Molekulargewicht von ca. 360 000 bei ca. 10 Gew.-% Polyvinylpyrrolidon enthielt.

Glucoseoxidase mit einer Aktivität von 110 U/mg wurde in einer wäßrigen Lösung gelöst, und die wäßrige Glucoseoxidaselösung wurde eingeengt zur Herstellung einer konzentrierten Glucoseoxidaselösung. Die Aktivität dieser konzentrierten Glucoseoxidaselösung betrug ca. 12 000 U/ml bei einem pH-Wert von 7,0.

Gluconolactonase, die aus *Aspergillus niger* getrennt und gereinigt wurde, wurde in einer wäßrigen Lösung gelöst. Die die Gluconolactonase enthaltende wäßrige Lösung wurde eingeengt unter Erhalt einer konzentrierten Gluconolactonase-Lösung. Die Aktivität dieser konzentrierten Gluconolactonase-Lösung betrug ca. 60 000 U/ml bei einem pH-Wert von 7,0.

Eine Menge von 15 μ l eines geeignet verdünnten Teils der konzentrierten Gluconolactonase-Lösung wurde 15 μ l konzentrierter Glucoseoxidase-Lösung, die in der vorstehend beschriebenen Weise erhalten worden war, zugeführt. Das erhaltene Lösungsgemisch wurde mit 30 μ l der wäßrigen Lösung des wasserlöslichen lichtempfindlichen Harzes, das in der vorstehend beschriebenen Weise erhalten worden war, gemischt. So wurde das Lösungsgemisch des enzym-wasserlöslichen lichtempfindlichen Harzes gewonnen. Das gewonnene Lösungsgemisch wurde als Überzug auf den für Wasserstoffionen empfindlichen Film 5 des mit der Source-Elektrode 3 und der Drain-Elektrode 4 versehenen ISFET-Elements 1 aufgebracht. Dann wurde der Überzug durch Anwendung einer Schleuder und anschließendes Trocknen zu einem Film vergleichmäßigt. Anschließend wurde das Lösungsgemisch des enzym-wasserlöslichen lichtempfindlichen Harzes unter Anwendung einer Suprahochspannungs-Quecksilberdampfampe von 250 W für die Dauer von 3 s durch eine Fotomask mit Licht bestrahlt, gefolgt von Entwickeln in destilliertem Wasser, wodurch die ein Muster aufweisende enzymfixierte Membran 7A gebildet wurde; so wurde der glucoseempfindliche FET-Sensor 8A hergestellt.

Anschließend wurden 10 mmol einer PIPES-NaOH-Pufferlösung (pH-Wert 7,0) eingesetzt, um die bei 30°C erhaltenen Kennlinien des glucoseempfindlichen FET-Sensors 8A zu bestimmen.

Die Grafik von Fig. 3 zeigt die Ansprechstärke (in mV) des glucoseempfindlichen FET-Sensors 8A, wenn die Aktivität der Gluconolactonase geändert wurde, während die Aktivität der Glucoseoxidase konstant war. Diese Ansprechstärke des Sensors 8A bezeichnet das Meßergebnis bei einer Glucosemenge von 0,5 mmol. Aus Fig. 3 ist ersichtlich, daß bei einem Aktivitätsverhältnis von Glucoseoxidase zu Gluconolactonase von kleiner als 1 : 2 die Ansprechstärke mit zunehmender Aktivität der Gluconolactonase ansteigt. Wenn dieses Aktivitätsverhältnis gleich oder größer als 1 : 2 ist, ist die Ansprechstärke gesättigt. Daraus ergibt sich, daß das vorgenannte

Aktivitätsverhältnis wenigstens 1 : 0,5 sein muß, um einen Sensor 8A mit ausreichend hoher Empfindlichkeit zu erhalten; insbesondere bei einem Aktivitätsverhältnis im Bereich bis 1 : 10 kann hohe Empfindlichkeit erzielt werden. Wenn man ferner die hohen Kosten für die Gewinnung von Enzymproben berücksichtigt, ist es vorteilhaft, die kleinstmögliche Enzymmenge einzusetzen. Somit liegt ein besonders vorteilhaftes Zusammensetzungsverhältnis bei Aktivitätsverhältnissen zwischen 1 : 2 und 1 : 3.

Fig. 4 ist eine Eichkurve des glucoseempfindlichen FET-Sensors 8A, die unter der Bedingung erhalten wurde, daß das Aktivitätsverhältnis von Glucoseoxidase zu Gluconolactonase 1 : 2 war. Aus Fig. 4 geht hervor, daß der Sensor 8A ein lineares Ansprechverhalten zeigte, bis die Glucosekonzentration 2 mmol erreichte. Außerdem hatte der Sensor 8A eine extrem kurze Ansprechzeit von 5 s. Diese Vorteile ergeben sich daraus, daß der enzymfixierte Membranfilm 7A, der aus dem wasserlöslichen lichtempfindlichen Harz hergestellt ist, als äußerst dünner Film von ca. 1 µm ausgebildet werden kann.

Fig. 5 zeigt Verläufe der hydrolytischen Reaktionen von D-Glucono- δ -lacton, die jeweils mit einer pH-Elektrode ermittelt wurden. Verwendete Proben waren Glucoseoxidase (I) (Glucoseoxidase-Aktivität: 133 U/mg) aus hochreinem *Aspergillus niger* und Glucoseoxidase (II) (Glucoseoxidase-Aktivität: 29,3 U/mg), die aus *Aspergillus niger* stammende Gluconolactonase enthielt. Dabei bezeichnet die Ordinate Änderungen des pH-Werts (Δ pH), während auf der Abszisse die Zeit (min) aufgetragen ist. Kurve I bezeichnet die Ergebnisse der hydrolytischen Reaktion von Glucoseoxidase (I), Kurve II diejenigen von Glucoseoxidase (II) mit Gluconolactonase und Kurve III die natürliche hydrolytische Reaktion von D-Glucono- δ -lacton ohne Glucoseoxidase (I) oder (II). Die Messungen wurden unter Einsatz von 10 mmol einer PIPES-NaOH-Pufferlösung (pH-Wert 6,94) bei 35°C durchgeführt. Aus Fig. 5 geht hervor, daß Kurve I im wesentlichen mit Kurve III übereinstimmt. Dagegen ist aus Kurve II ersichtlich, daß D-Glucono- δ -lacton sehr schnell zu Gluconsäure hydrolysiert wird, wenn Gluconolactonase enthaltende Glucoseoxidase (II) eingesetzt wird.

Es wurde eine wäßrige Lösung eines wasserlöslichen lichtempfindlichen Harzes hergestellt unter Lösen eines 2-5-Bis(4'-azid-2'-sulfobenzyl)cyclopentanon-Natriumsalzes (hergestellt von Tokyo Ohkagogy Co., Ltd.) in z. B. einer wäßrigen Lösung, die eine 10 Gew.-% wasserlösliche Harzlösung aus Polyvinylpyrrolidon mit einem Molekulargewicht von ca. 360.000 bei ca. 10 Gew.-% Polyvinylpyrrolidon enthielt. 2 mg eines Gemischs aus Glucoseoxidase (I) und Glucoseoxidase (II) mit Gluconolactonase und 10 mg Rinderserumalbumin wurden in 0,2 ml der oben beschriebenen wäßrigen Lösung gelöst unter Erhalt einer einheitlichen Lösung. Das so hergestellte wäßrige Lösungsgemisch des enzym-wasserlöslichen lichtempfindlichen Harzes wurde als Überzug auf den für Wasserstoffionen empfindlichen Film 5, der als Kanal eines pH-ISFET-Elements 1 mit einer Source-Elektrode 3 und einer Drain-Elektrode 4 dient, aufgebracht. Dann wurde mittels einer Schleuder der Überzug zu einem Film vergleichmäßig und dieser getrocknet. Anschließend wurde das Lösungsgemisch des enzym-wasserlöslichen lichtempfindlichen Harzes während 5 s durch eine Fotomaske mittels einer Suprahochspannungs-Quecksilberdampflampe von 250 W mit Licht bestrahlt und anschließend in einer wäßrigen 3% Glutaraldehydlösung entwickelt. Auf diese Weise wurde die ein Muster aufweisende enzymfixierte Glucoseoxidase-Membran gebildet, und so wurden die glucoseempfindlichen FET-Sensoren hergestellt, um als Beispiele für die Erfindung zu dienen.

Mit dem vorbeschriebenen Verfahren wurden fünf Beispiele von glucoseempfindlichen FET-Sensoren gemäß der Erfindung hergestellt unter Einsatz von Glucoseoxidase (I) und von Gluconolactonase enthaltender Glucoseoxidase (II) mit den in der folgenden Tabelle aufgeführten Mischungsverhältnissen (Gewichtsverhältnissen). Zu Vergleichszwecken wurde ferner Glucoseoxidase (I) allein zur Herstellung eines als Vergleichsbeispiel dienenden glucoseempfindlichen FET-Sensors nach dem oben beschriebenen Verfahren eingesetzt. Die Tabelle zeigt außerdem die Ansprechstärke (mV) jedes dieser Sensoren in bezug auf 40 mg/dl D-Glucose. Die Messungen wurden unter Einsatz von 10 mmol einer PIPES-NaOH-Pufferlösung (pH 7,08) bei 25°C durchgeführt. Fig. 6 zeigt vergleichsweise die Ansprechkurven des glucoseempfindlichen FET-Sensors nach der Erfindung und des bekannten glucoseempfindlichen FET-Sensors. Dabei sind auf der Ordinate die Ansprechstärke (mV) und auf der Abszisse die Zeit (min) aufgetragen. Die Kurve IV bezeichnet die Ansprechkurve von Beispiel 1 der Erfindung, und die Kurve V bezeichnet die Ansprechkurve des Vergleichsbeispiels.

Tabelle

	Beisp. 1	Beisp. 2	Beisp. 3	Beisp. 4	Beisp. 5	Vergleichs- beispiel
Gemisch aus (II) : (I)	5 : 0	4 : 1	3 : 2	2 : 3	1 : 4	0 : 5
Ansprechen auf 40 mg/dl Glucose (mV)	8,65	11,42	14,80	12,52	8,17	0,93

Aus der vorstehenden Tabelle und aus Fig. 6 ist ersichtlich, daß die Beispiele, die Glucoseoxidase (II) mit Gluconolactonase verwenden, sowohl hinsichtlich der Empfindlichkeit als auch der Ansprechgeschwindigkeit dem Vergleichsbeispiel, das nur Glucoseoxidase (I) verwendet, weit überlegen sind. Es ist zu beachten, daß der höchste Empfindlichkeitswert mit dem glucoseempfindlichen FET-Sensor erzielt wurde, dessen enzymfixierte Membran aus dem 3 : 2-Gemisch von Glucoseoxidase (I) und Glucoseoxidase (II) mit Gluconolactonase bestand. Zum Zweck der Beschreibung wurde in den vorstehend erläuterten Beispielen Gluconolactonase aus *Aspergillus niger* eingesetzt. Es können aber auch die in Hefe enthaltenen Enzyme, *Pseudomonas fluorescens*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, Schweineleber, Rinderleber od. dgl. aufbereitet und als Gluconolac-

tonase eingesetzt werden. Auch in diesem Fall kann eine Auswirkung ähnlich der oben beschriebenen erzielt werden.

Bei den vorstehend beschriebenen Beispielen wurde beispielhaft als Enzymfixierverfahren ein optisches Vernetzungsverfahren angegeben. Selbstverständlich ist es ebenso möglich, jedes Enzymfixierverfahren anzuwenden, bei dem sowohl die stabile Fixierung eines Enzyms als auch die Bildung eines dünnen Films möglich ist.

Bei den obigen Beispielen wurden Glucoseoxidase und Gluconolactonase miteinander vermischt zur Herstellung einer Enzymlösung. Es gibt jedoch einige Fälle, in denen Gluconolactonase als Verunreinigung in Glucoseoxidase aus *Aspergillus niger* vorliegt, und diese Glucoseoxidase kann direkt eingesetzt werden. Wenn dabei das Aktivitätsverhältnis bei einem pH-Wert 7 von Glucoseoxidase zu Gluconolactonase im Bereich von 1 : 0,5 bis 1 : 10 liegt, kann ein solches Enzym direkt zur Erzeugung eines geeigneten Effektes wie bei den vorstehend beschriebenen Beispielen eingesetzt werden.

Patentansprüche

1. Glucoseempfindlicher FET-Sensor mit einem Substrat (2), mit einer im Substrat gebildeten Source-Elektrode (3), mit einer im Substrat gebildeten Drain-Elektrode (4) und mit einer enzymfixierten Membran (7A), die Glucoseoxidase enthält, dadurch gekennzeichnet, daß ein auf dem Substrat (2) gebildeter wasserstoffionenempfindlicher Film (5) die Source- und die Drain-Elektrode überdeckt, daß die Membran (7A) auf dem wasserstoffionenempfindlichen Film gebildet ist, und daß die Membran (7A) außer Glucoseoxidase auch Gluconolactonase enthält.

2. Glucoseempfindlicher FET-Sensor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Aktivitätsverhältnis der Glucoseoxidase zur Gluconolactonase im Bereich von 1 : 0,5 bis 1 : 10 liegt.

3. Glucoseempfindlicher FET-Sensor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Aktivitätsverhältnis der Glucoseoxidase zur Gluconolactonase im Bereich von 1 : 2 bis 1 : 3 liegt.

4. Glucoseempfindlicher FET-Sensor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Dicke der enzymfixierten Membran in der Größenordnung von μm liegt.

5. Verfahren zur Herstellung eines glucoseempfindlichen FET-Sensors, gekennzeichnet durch folgende Verfahrensschritte:

Herstellen einer enzymfixierten Membran als Glucoseoxidase und Gluconolactonase enthaltender Dünnschicht; und

Ausbilden dieser Membran auf einem für Wasserstoffionen empfindlichen Film, der auf einem Substrat gebildet ist und eine Source-Elektrode und eine Drain-Elektrode, die beide im Substrat ausgebildet sind, überdeckt.

6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß der Herstellungsschritt für die Membran ferner folgende Schritte umfaßt:

Herstellen einer wäßrigen Lösung eines wasserlöslichen lichtempfindlichen Harzes, das Glucoseoxidase und Gluconolactonase enthält;

Aufbringen der wäßrigen Lösung des wasserlöslichen lichtempfindlichen Harzes als Überzug auf den für Wasserstoffionen empfindlichen Film, der auf dem Substrat die Source- und die Drain-Elektrode überdeckend gebildet ist; und

Bestrahlen eines vorbestimmten Teils der als Überzug auf das Substrat aufgetragenen wäßrigen Lösung mit Licht unter Bildung einer enzymfixierten Dünnschicht-Membran.

Hierzu 5 Seite(n) Zeichnungen

FIG. 3

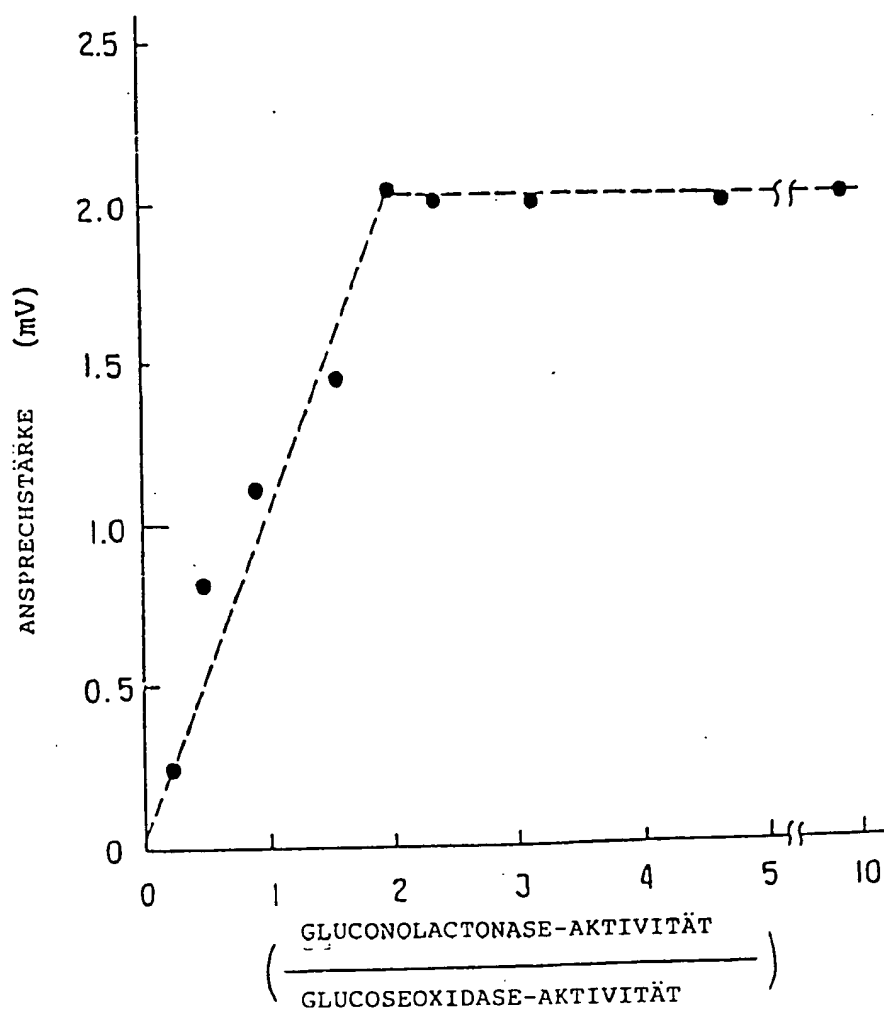


FIG. 4

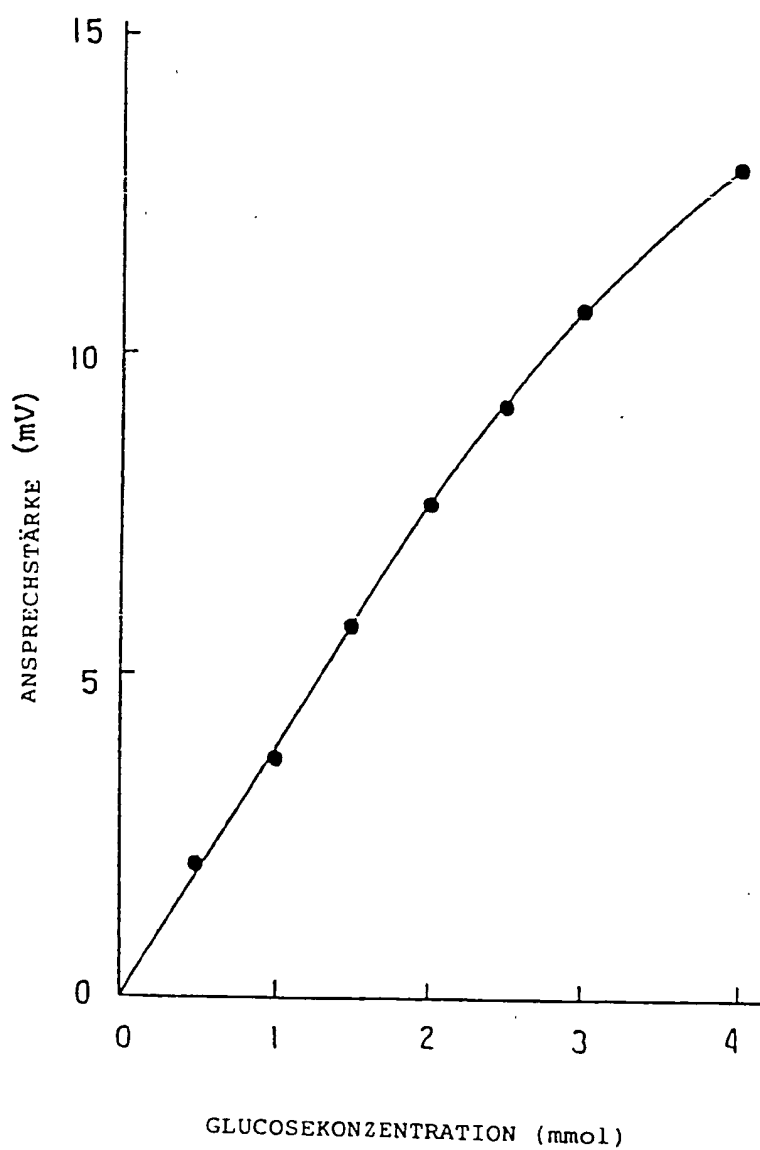


FIG. 5

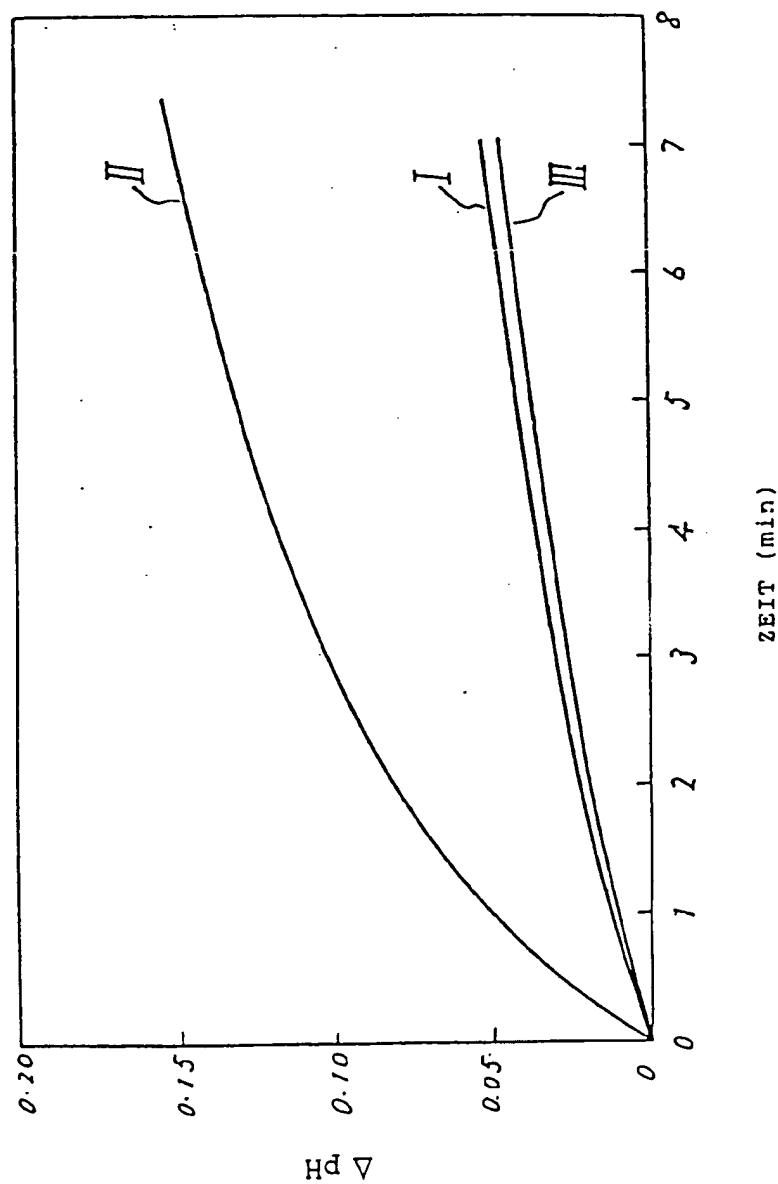


FIG. 6

